Aus dem Institute für Pharmakologie und physiologische Chemie
zu Rostock.

Über
Erdnußphasin und Ricin

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

vorgelegt

von

Hermann Feuerhack

aus Templin.

Rostock.
Rats- und Universitäts-Buchdruckerei von Adlers Erben, G. m. b. H.
1912.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock.

Referent: Prof. Kobert.

Meinen Eltern

in Dankbarkeit.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553620_0126

Inhalt.

Seite:

I. Einige einleitende Bemerkungen über die in Rede stehende Pflanze 7

II. Über schädliche Wirkung unreiner Futterkuchen . . . 9

III. Über das Vorkommen von agglutinierenden Stoffen in anderen Pflanzen als in Ricinus 15

IV. Enthält etwa auch die Erdnuß ein Agglutinin? . . . 18

1. Über die von anderen Autoren gefundenen Stoffe 18
2. Eigne Versuche der Darstellung eines Agglutinins . . 19
3. Besitzt das Erdnußphasin toxische Wirkungen? . . 29
4. Läßt sich Ricinusbeimischung im Erdnußmehl biologisch nachweisen? 32
5. Hat Anverdauung einen Einfluß auf den Nachweis des Ricinus im Erdnußmehl? 41

I. Einige einleitende Bemerkungen über die in Rede stehende Pflanze.

Unter die Pflanzen der heißen Länder, welche zur Ernährung von Menschen und Tieren auch in Europa in noch immer steigendem Maße verwendet werden, gehört auch die Erdnuß. Sie ist die in der Erde reifende Frucht von Arachis hypogaea L., einer Papilionacee, die z. B. in Brasilien einheimisch ist. Die Pflanze ist einjährig, ästig, hat zweipaarige Fiederblätter, in deren Winkeln gelbrote Schmetterlingsblüten stehen. Die Blüte sitzt am Ende einer langen stielförmigen Kelchröhre, an deren Boden der Fruchtknoten sich befindet. Nach dem Abfallen der Blüte verlängert sich der Stiel (Dorn) der Kelchröhre nach unten und treibt einige Zoll tief in den Boden. Der Stiel, der nicht nach wenigen Stunden nach dem Abfallen der Blüte in den Boden eindringt, stirbt ab. Im Boden verdickt sich der Fruchtknoten zu einer weißen bis dunkelgelben, runzeligen, oft in der Mitte zusammengeschnürten Schote, die bis zu 3 Samenkörner enthält. Die meist rotbraunen Samen schmecken mandelartig und sind ungemein nahrhaft, denn sie enthalten 28 % Eiweißstoffe, 43—50 % Fett, sowie auch noch etwas Kohlehydrate (Amylum und Zucker). Die Erdnuß ist aus diesem Grunde, wie leicht begreiflich, schon vom Urmenschen sehr geschätzt worden. Sie wird seit undenklicher Zeit kultiviert. Ihre eigentliche Heimat ist gar nicht mehr festzustellen. Man baut sie von der Küste von Mozambique an durch das Gebiet des Bahr el Gazal, des weißen Nils bis Kordofan und

Dar Fur sowie im ganzen Becken des Tsadsees und durch den Sudan bis zur Westküste hin. Schon im 16. Jahrhundert kam sie nach Westindien. In Brasilien ist ihre Kultur älter als die europäische Einwanderung; aber hier wie in Uruguay, China, Kochinchina und Japan sowie auf den pazifischen Inseln ist sie nicht von gleicher Bedeutung wie in Afrika. Im großartigsten Maßstabe wird sie in Madras und in den südlichen Staaten von Nordamerika gebaut. Für unsere Kolonien erlangt sie ebenfalls immer mehr Bedeutung. In Spanien, Frankreich und Algerien hat man mit ihrem Anbau gute Ergebnisse erzielt. Die Ausfuhr aus Afrika ist eine ganz enorme. So wurden allein aus Westafrika von Senegambien bis zum Kongo schon vor 15 Jahren jährlich 80 Millionen kg Samen ausgeführt. Zum Teil wird gleich an Ort und Stelle das Öl gepreßt und dieses an sich exportiert; so z. B. aus Madras. Die afrikanischen Völker genießen die Erdnuß frisch und zu Brei gekocht; in Spanien und im tropischen Amerika röstet man sie. Auch die bei uns zum Essen angebotenen Erdnüsse sind geröstet. Vielfach wird das aus fein gemahlenen Erdnüssen gewonnene Mehl beim Backen benutzt, da es den Backwerken Mandelgeschmack verleiht. Im Handel erscheint ferner die sogenannte Erdnußbutter, die aus dem zerkleinerten, wenig gerösteten, haut- und keimbefreiten Kerne gewonnen wird. In Europa pressen England, Frankreich, Holland und Deutschland enorme Mengen von Erdnüssen. Das kalt gepreßte Öl ist farblos, dünnflüssig, erstarrt bei 3° Kälte. An der Luft wird es nicht dick. Sein Geschmack ist angenehm. Es wird zu Speisezwecken teils direkt verwendet, teils mit zu Margarine verarbeitet. Die Preßkuchen, welche ja die gesamte Menge der Eiweißstoffe und der Kohlehydrate enthalten, sind ein wertvolles Kraftfutter für unsere pflanzenfressenden Haustiere.

II. Über schädliche Wirkung unreiner Futterkuchen.

Bei der Verwendung von aus dem Auslande stammenden Ölkuchen und Ölkuchenmehl, deren Vertrieb als Kraftfutter einen so kolossalen Aufschwung in der Landwirtschaft gewonnen hat, kamen in den letzten Jahren wiederholt Viehschäden zur Beobachtung, deren Veröffentlichung zweifellos zur Beunruhigung unter den Landwirten führen mußte und die den Handel mit Preßkuchen zu bedrohen schienen. Im allgemeinen wurden die Viehschäden den Verunreinigungen der Futtermittel, namentlich durch Ricinuspreßrückstände, nicht mit Unrecht zugeschrieben. So beschreibt Emmerling[1]) eine Vergiftung durch Ricinusrückstände bei einer ganzen Viehherde von 120 Stück. Diese Rückstände waren im Palmkernmehl enthalten. Die Tiere fraßen nicht und bekamen Durchfall, der 48 Stunden anhielt; der Milchertrag ging auf die Hälfte zurück. In einem andern Falle — berichtet von Eidam[2]) — erkrankten in einem Stalle 35 Pferde nach mit Ricinus verunreinigtem Leinmehl. Der Puls wurde klein, kaum fühlbar; dazu kam Herzklopfen, große Schwäche, Unruhe, Angst, Taumeln, Ikterus der Bindehäute, Pupillenerweiterung; die Atmung war krampfhaft, keuchend, die Bauchmuskeln waren krampfhaft gespannt, häufiges Kollern im Leib war vernehmbar. Bei einigen Tieren trat Diarrhoe ein. Zwei Tiere starben. Die Sektion ergab heftige Gastritis, Hirnhyperaemie, Hirnoedem. Prof. Honcamp berichtet über eine Reihe von Vergiftungen durch Kokoskuchen,

---

[1]) Jahresbericht d. agrikulturchem. Versuchsstation Kiel, Jg. 1898, p. 17.

[2]) Biedermann, Zbl. für Agrikulturchemie 1889, p. 90.

in denen sich Ricinus nachweisen ließ; eine ganze Zahl von Tieren starb nach Aufnahme dieser Kuchen. Viele Fälle von nachgewiesener Futterverunreinigung durch Ricinuskuchen werden von Halenke und Kling angeführt.

Zu besonders scharfen Erörterungen kam es in den landwirtschaftlichen und chemischen Blättern über einige Fälle von Vergiftungen durch Erdnußkuchen, die Ricinuspreßrückstände enthielten. An der Versuchsstation Möckern wies F. Barnstein in einer ganzen Reihe von Futtermittelproben (Erdnußmehl-, Sesam- und Leinkuchen) Ricinussamen nach. In diesen Fällen waren die gefütterten Tiere schwer erkrankt, z. Teil sogar eingegangen. Großes Aufsehen erregten die Massenvergiftungen nach Darreichung von Erdnußkuchen auf den Gütern des Herrn von Bismarck auf Antonshof. Es wird darüber berichtet[1]): Nach Verfütterung von Erdnußmehl an viele Kühe in zwei Ställen trat sofort eine choleraartige Entleerung wässriger Stühle ein, während alle nicht damit gefütterten Tiere gesund blieben. Fünf Tiere vermochten sich am folgenden Tage nicht mehr auf den Beinen zu halten. Eine physiologische Prüfung des Futtermittels durch eine Versuchsstation bestätigte die starke Giftigkeit. Weiter wurde festgestellt, daß durch Kochen das Futter entgiftet wurde. Prof. O. Kellner und F. Barnstein vermochten darin Verunreinigung durch relativ viel Ricinussamen nachzuweisen. Sie schließen: „Erdnußmehl, in welchem sich selbst nur geringe Mengen von Ricinusmehl nachweisen

[1]) H. v. Bismarck, Die Geschichte eines Futterkaufes, Deutsche Landwirtschaftl. Presse, Jg. **35**, 1908, Nr. 16, p. 167 u. Nr. 38, p. 407.

lassen, sollte unbedingt vom Futtermittelmarkt ausgeschlossen werden."

Auch Prof. Kobert stellte mit dem fraglichen Erdnußmehl Versuche an und es gelang ihm noch nach mehreren Jahren nachzuweisen, daß in je 40 g des Erdnußmehls mehr Ricin vorhanden war, als zur Vergiftung eines erwachsenen Kaninchens notwendig war; die Sektion ergab beide Male typischen Befund. Kobert ist der Ansicht, daß es sich bei den Kühen des Herrn von Bismarck um Verunreinigung der Preßkuchen durch Ricinussamen (nicht nur Schalen) gehändelt hat, und daß der Ricinusgehalt möglichenfalls anfangs wesentlich größer war als zur Zeit seiner Versuche, die er mit dem schlecht konservierten Reste des fast drei Jahr alten Erdnußmehls anstellte. Diesen Ansichten über jene Vergiftungserscheinungen stehen die von Prof. Miessner und Prof. Dr. Schmidt gegenüber. Auch Miessner konnte feststellen, daß das verabreichte Mehl im höchsten Grade gesundheitsschädlich war, auch vermochte er in späteren Untersuchungen die Anwesenheit von Ricin festzustellen. Indessen will er die Erkrankungen dem Ricingehalt allein nicht zuschreiben, seiner Meinung nach muß dabei noch ein anderes Gift unbekannter Art im Spiel gewesen sein. Miessner schreibt ferner, daß er nach seinen Untersuchungen die durchschnittliche Todesdosis nach einmaliger Fütterung bei Kühen 350—450 g annimmt und daß demnach in 750 g pro Kopf verabreichten Erdnußmehls fast die Hälfte Ricinussamen enthalten gewesen sein müßte, wenn man den Tod und die Erkrankung der Kühe nach eintägiger Fütterung in ursächlichen Zusammenhang mit dem Ricinussamen bringen wollte, wogegen indessen seine Präzipitations- und Tierversuche sprächen. Diesen Schlußfolgerungen widersprach der kürzlich verstorbene Geh. Rat Prof. Kell-

n e r energisch. Seiner Meinung nach könnte Miessner doch unmöglich die Ergebnisse seiner Untersuchungen mit den Viehschäden in Antonshof in Zusammenhang bringen; denn dort hätte es sich um Preßrückstände gehandelt, während sich die erwähnten Berechnungen auf Ricinus s a m e n bezögen. Da nun beim Pressen der Samen, die ja annähernd 50 % Öl enthielten, das Öl abfließe, während das Ricin im Preßkuchen bliebe, so müßte der Preßkuchen, angenommen, daß die Preßrückstände das halbe Gewicht des Samens annähmen, doppelt soviel Gift enthalten wie der ungepreßte Samen. Die fetthaltigen Samen, mit denen Miessner die Versuche anstellte, könnten also unmöglich den entfetteten Ricinuspreßrückständen gleich gerechnet werden. Ganz entschieden tritt dagegen Prof. Dr. S c h m i d t in Hamburg gegen K e l l n e r und für die Behauptungen M i e s s n e r s ein. In eigenen Versuchen will er die Ergebnisse Miessners bestätigt gefunden haben. Im Jahre 1908 berichtete er im „Saaten-, Dünger- und Futtermarkt" über Fütterungsversuche an Kühen mit Erdnußkuchen, die geringe Mengen Ricinus- und Jatrophasamen als Verunreinigungen enthielten. Wie viel Prozent diese Verunreinigung ausmachte, sagt er nicht. Er stieg mit der Darreichung des Erdnußkuchen von 1—2 Pfund bis 4—5 Pfund pro Tag. Die am reichlichsten gefütterte Kuh erhielt binnen 14 Tagen im ganzen 75 Pfund und blieb gesund. Er folgert daraus: „Man wird mir beipflichten müssen, daß bei solchem Verlauf der Versuche die Behauptung, die in Rede stehenden Erdnußkuchen seien giftig, von uns nicht bestätigt werden könnte." Weiter sagt er: „Ich behaupte zuversichtlich, daß es noch nicht in einem Falle einwandfrei bewiesen wurde, daß kleine Mengen von Ricinus, Spuren also, Viehvergiftungen bewirkten." In einem anderen Artikel, der in der landwirtschaftlichen Umschau (Sept.

1910, Nr. 36) veröffentlicht wurde, äußert er sich bezüglich der Fütterungsmißerfolge mit ausländischem Kraftfutter dahin, daß mit Unrecht oft Viehschäden den verfütterten Kraftfuttermitteln zur Last gelegt würden, während doch so häufig bei der Fütterung Fehler begangen würden, die leicht zu nicht geringen Störungen im Wohlbefinden des Viehes führen könnten. Besondere Beachtung schenkt er den Krankheitserscheinungen nach Genuß von Erdnußkuchenmehl. Die Verunreinigung desselben durch Ricinus streift er nur, seinen alten Standpunkt wiederholend, nach dem Ricinus in kleinen Mengen unschädlich sei. Worin der Grund zu suchen ist, daß sich unter Umständen Verdauungsstörungen beim Vieh nach Aufnahme von Erdnußkuchen einstellen, versucht er unter Hinweis auf die physikalischen Eigenschaften des Erdnußkuchen zu erklären. Die Neigung, in mit Wasser aufgeschwemmtem Zustande „rasch zu einem dichten schmierigen Brei zu sedimentieren", träten wie bei Baumwollsaatkuchenmehl und Sojabohnenmehl auch bei Erdnußkuchenmehlen zutage, besonders bei denen, welche von den handgepreßten Kuchen (Nativekuchen) stammten, bei deren Herstellung das Fruchtfleisch fast hornige Beschaffenheit annähme, was das Kuchenmehl natürlich schwerer verdaulich mache, um so mehr, wenn auflockernde Holzfaser bei Nichtanwendung von geeignetem Beifutter fehle. Selbst wenn auch dies nicht außer acht gelassen würde, wäre doch das Anrühren des Kuchenmehls mit Wasser insofern ein erschwerendes Moment für die Verdauungsarbeit des Tieres, weil mangels ausgiebiger Einspeichelung keine genügende Zerteilung der Masse erfolge. Im Anschluß daran äußert Schmidt „Wir führen die genugsam erläuterten Erkrankungserscheinungen auf Antonshof auf nichts als auf verkehrte Fütterungsweise unter gänzlichem Außeracht-

lassen der bei Erdnußkuchenmehl gegebenen Fütterungsregeln zurück, unbeirrt durch das Verhalten des Futtermittelausschusses der deutschen Landwirtsch. Versuchs-Stationen.“ Die Versuche von Kobert schweigt er also ganz tot. Eine kritische Durchsicht der vorstehenden Berichte zeigt, daß es unbedingt nötig ist, Methoden auszuarbeiten, ganz kleine Ricinusmengen in Futterkuchen sicher nachzuweisen. Dazu ist aber die Vorbedingung, die einzelnen Futtermittel und vor allem die Erdnußkuchen an sich zu untersuchen, ob sie etwa Substanzen enthalten, welche in größeren Mengen giftig wirken, oder, falls dies nicht der Fall ist, wenigstens den biologischen Nachweis von Ricinus in Futterstoffen hindern, ja unmöglich machen. Ein Teil dieser Aufgaben ist pharmakologischer Natur und gehört daher nicht in die landwirtschaftlichen Institute, sondern besser in pharmakologische. Verschiedene Wege sind im Laufe der letzten Jahre zum Ricinusnachweis in Futtermitteln angegeben worden. Ich verweise auf die Arbeiten von Benecke, Bille Gram, A. Halenke und Kling, die über den pharmakognostischen Nachweis des Ricinus handeln. O. Kellner und Barnstein empfehlen zum Nachweis von Ricin in Erdnußkuchen das von Hebebrandt angegebene Aufhellungsverfahren anzuwenden, der Chlor in das Futtermittel einleitet. Miessner gibt ein Präzipitationsverfahren mit Antiricinserum an, und auch Mooser[1]) beweist mit seinen Versuchen die überaus praktische Bedeutung dieser Methode. Als neueres Verfahren sei ferner noch die Anaphylaxie erwähnt, mit deren Hilfe nach Dr. K. Schern[2]) der Nachweis von Verfälschungen in Futtermitteln möglich ist. Schließlich sei noch beim Ricinus-

[1]) Die Landw. Versuchsst., Bd. **75**, 1911.

[2]) Arch. f. wiss. u. pr. Tierheilkunde, Bd. **36**, 1910, p. 590 u. Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1911, Nr. 7.

nachweis in Futtermitteln besonders auf die von Kobert und Stillmark schon 1886 festgestellte Tatsache, daß das Ricin im Reagenzglas Blut-Agglutination verursacht, hingewiesen.

III. Über das Vorkommen von agglutinierenden Stoffen in anderen Pflanzen als in Ricinus.

Natürlich darf hier nicht außer acht gelassen werden, daß es gelungen ist, in einer ganzen Anzahl von Pflanzen und darunter auch von Papilionaceen unzweifelhafte Agglutinine nachzuweisen, die eventuell den Ricinnachweis mittelst der Agglutinationsprobe unmöglich machen, d. h. Ricin vortäuschen könnten. So stellte zuerst Kobert die Agglutinationswirkung des Abrin aus den Samen von Abrus precatorius (Paternostererbse) fest und ließ sie von seinem Schüler H. Hellin ausführlich beschreiben. Ebenfalls im Kobertschen Institut wurde auch das Crotin im Crotonsamen von Croton Tiglium (Euphorb.) entdeckt, und seine giftigen und agglutinierenden Eigenschaften von Elfstrand beschrieben. Als drittes Agglutinin mit toxischen Eigenschaften wurde im Institut von Kobert das Robin, das Power[1]) aus der Rinde von Robinia pseudoaccacia dargestellt hat, erkannt und von Lau[2]) beschrieben. Auf eine ganze Reihe von pflanzlichen Agglutininen, die nur geringe oder keine Giftwirkung zeigen, wiesen Landsteiner und Raubitschek[3]) hin; sie fanden solche in den

[1]) The Chemistry of the Bark of Robinia Pseudoaccacia. The Wellcome Research Laboratories. London 1901.

[2]) Über vegetabilische Blutagglutinine. Diss., Rostock 1901

[3]) Centralbl. f. Bakt., **45**, Heft 7, 1908.

Samen von Phaseolus vulgaris, Pisum sativum, Ervum Lens, Vicia sativa. Auch in den Solanaceen, und zwar in den Samen von einigen Daturaarten wurden Agglutinine festgestellt und zwar von v. Eisler und v. Portheim[1]). Wienhaus[2]), veranlaßt durch die Arbeiten von Landsteiner und Raubitschek, ermittelte in verschiedenen Varietäten von Phaseolus vulgaris und Vicia faba die agglutinierende Wirkung. Von Varietäten der ersteren untersuchte er die Samen der weißen Schminkbohne, der Flageolett-Wachsbohne, der Schlachtschwert-stangenbohne, der Holsteinschen Perl-bohne und der römischen Wachsbohne; von Varietäten der Vicia faba untersuchte er die amerikanische Puffbohne, die schottische Grantonbohne, die Weserpferdebohne, die Teverolle de Picardie, die Teverolle de Loraine, Kirsches Pferdebohne und die deutsche Mondbohne, ferner die Vicia mazagana, unica, macrochloris, atra und circularis. Wirksam erwiesen sich ferner von Unterarten der Wicke, Vicia sativa, die gewöhnliche Futterwicke, die spanische, darlekarische, kapetownsche und die weißsamige Futterwicke. Agglutininhaltig wurden von andern Spezies der Vicia, die Vicia villosa, hybrida, narbonnensis, lutea, graminea, segetalis und pseudocracca gefunden. Auch in Samen von Pisum sativum und Ervum Lens stellte Wien-

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. experim. Therapie 1908, I. Teil, 1. Abt., S. 151.

[2]) Zur Biochemie des Phasins. Inaug.-Diss., Rostock 1909.

haus Agglutinin fest, ferner in der Erderbse, Voandzeia subterranea, und in der Vigna sinensis. Besonders stark erwies sich das Agglutinin in der Soja hispida. Weitere pflanzliche Agglutinine konnte schließlich F. Assmann[1]) darstellen. So stellte er einen stark agglutinierend wirkenden Auszug aus frischen Markerbsen dar. Aus Schalenerbsen und aus drei Arten von Platterbsen, nämlich aus Lathyrus odorus, Lathyrus vernus und Lathyrus tingitanus, konnte er ein Agglutinin mittelst Alkoholfällung des Kochsalzauszuges abscheiden. Ein in derselben Weise dargestelltes Präparat aus Datura Stramonium (Solanaceae) wirkte gerade so, wie v. Eisler und v. Portheim es beschrieben haben. Endlich vermochte Assmann auch aus Canavalia ensiformis, einer zu den Phaseoleae gehörigen Bohne, ein Agglutinin darzustellen; es erwies sich gegenüber den verschiedensten Blutarten als wirksam. Lafayette Mendel fand außer in Erbsen, Linsen, Bohnen auch in Caragana arborescens, Cassia marylandica, Robinia Pseudoaccacia, Wistaria sinensis sowie auch in Hesperis matronalis Agglutinine. Mit den genannten Pflanzen ist die Zahl derjenigen, die Agglutinine enthalten, noch keineswegs erschöpft; vielmehr hat Prof. Kobert inzwischen noch andere entdeckt, über die er demnächst publizieren wird. Den Familien nach gehören alle überhaupt untersuchten Agglutinine zu den Euphorbiaceen, Cruciferen, Solanaceen und namentlich zu den Papilionaceen.

[1]) F. Assmann, Über agglutinierende Pflanzengifte. Inaug.-Diss., Rostock 1910.

IV. Enthält etwa auch die Erdnuß ein Agglutinin?

1. Über die von anderen Autoren gefundenen Stoffe.

Da in so vielen Papilionaceen Agglutinine aufgefunden waren, lag es nahe, auch bei Arachis hypogaea, der Erdnuß, danach zu fahnden. Darum stellten schon Wienhaus und unabhängig von ihm in Amerika Mendel[1]) diesbezügliche Versuche an, aber es gelang ihnen nicht, in der Erdnuß einen auf Blutkörperchen agglutinierend wirkenden Stoff nachzuweisen. Verschiedene andere Autoren sahen sich durch die bereits oben erwähnten üblen Erfahrungen bei Fütterung von Erdnußkuchen veranlaßt, in der Erdnuß nach einem giftigen Stoff zu suchen, erzielten aber negative Ergebnisse, d. h. sie fanden weder ein Agglutinin noch ein Alkaloid oder Glykosid. Sie begnügten sich daher damit, jene üblen Fütterungserfolge teils auf Verunreinigungen durch Unkräuter, teils auf das Leicht-Ranzig-Werden der Erdnußkuchen zu schieben. E. Schultze und seine Schüler, deren Untersuchungen sich unter andern auch auf Erdnuß- und Sesamkuchen bezogen, konnten als normale Stoffwechselprodukte in den meisten von ihnen untersuchten Keimpflanzen und daher auch in der Erdnuß Cholin und Betain nachweisen. Sie hatten auch bei ihren Versuchen Produkte erhalten, die sie wohl für organische Basen erklären mochten, jedoch ihrer geringen Quantität wegen nicht näher untersuchen konnten. Daraufhin stellte Mooser[2]) durch Versuche fest, daß das Cholin in der Erdnuß nicht als giftig

[1]) Observations on Vegetable Haemagglutinins, Archivio di Fisiologia, vol. 7, 1909, Estratto.

[2]) Landwirtsch. Versuchsstat., Bd. 60 (S. 321) (1904).

wirkende Substanz in Erscheinung tritt. Es gelang ihm aber, in einem besonderen Verfahren ein eigenartiges Alkaloid abzuspalten, dem er den Namen Arachin gab. Er stellte damit Tierversuche an, doch konnte er nach diesen noch kein genügendes Urteil über die Wirkungsweise des Arachins fällen. Er nimmt an, daß es ein ständiger Begleiter der Erdnuß ist und fügt hinzu: „Aus der angegebenen Herstellungsweise sowohl, als auch aus den Eigenschaften des erhaltenen Körpers und seiner Verbindungen geht hervor, daß er nach seinem Verhalten und nach seiner Zusammensetzung mit keiner der bisher in der Literatur erwähnten Basen identifiziert werden kann, also ein dem Erdnußsamen eigentümliches Produkt ist.“ Dies ist alles, was bisher über die allenfalls für die Wirkung der Erdnußkuchen in Betracht kommenden Stoffe festgestellt worden ist.

2. Eigene Versuche, die Darstellung eines Erdnußagglutinins und seine Wirkung auf Blut betreffend.

Trotzdem schon zwei frühere Autoren vergeblich in der Erdnuß ein Agglutinin gesucht hatten, gingen unsere eigenen Versuche doch wieder darauf aus, in der Erdnuß eine auf Blutkörperchen agglutinierend wirkende Substanz nachzuweisen. Wie ich voraus bemerken will, ist uns dies nach zahlreichen Versuchen auch gelungen. Unsere ersten Versuche stellten wir mit frischen (1910) aus Amani in Ostafrika von uns bezogenen Erdnußsamen an. Die Darstellung unseres Stoffes geschah folgendermaßen: 10 g Erdnüsse wurden (inklusive der roten Samenschale) zerrieben und mit 100 ccm physiolog. Kochsalzlösung zur Emulsion angestoßen. Nach 4stündigem Stehen wurde filtriert. Da das sehr fetthaltige Filtrat eine Milch war, so mußte

eine Klärung vorgenommen werden. Zu diesem Behufe wurden 3 ccm gesättigte Alaunlösung zugesetzt und sodann, da das Ganze sauer reagierte, mit kohlensaurem Natron die Azidität abgestumpft. Dabei entstand eine voluminöse schneeweiße Fällung. Eine Filtration ergab ein hellgelbes, ganz klares Filtrat, von welchem 1 ccm ungefähr dem Löslichen aus 0,1 g frischem, nicht entöltem Samen entsprach. Dieses Filtrat sowie das gleich zu beschreibende aus Preßkuchen gewonnene wurde sofort mit Alkohol $\overline{aa}$ gefällt. Die meisten unserer Versuche stellten wir jedoch mit einem Präparate aus Erdnußmehlpreßkuchen an. 200 g pulverisiertes entfettetes normales Erdnußmehl wurden mit 1000 ccm physiolog. Kochsalzlösung 24 Stunden lang bei 38° C. nach Zusatz von dreißig Tropfen Chloroform digeriert, das Ganze vielmals energisch durchgeschüttelt. Dann wurde erst durch Leinwand koliert und alsdann durch Papier filtriert; es ergab ein klares Filtrat, das deutlich sauer reagiert. Dies wird daher mit einigen Tropfen Natriumkarbonat neutralisiert; dabei tritt ein langsam sich absetzender lockerer weißlicher amorpher Niederschlag auf, der auf dem Filter gesammelt wird und dann spurweise einen lila Farbenton zeigt.

Bei dem Auszug aus den Amanisamen sowohl wie auch bei dem Normalkuchenauszug erhielten wir bei Zusatz von gleicher Menge Alkohol sofort eine voluminöse Fällung, die wir auf dem Filter sammelten und mit 50 %igem Alkohol nach einigen Stunden nachwuschen. Im Filtrat, wo ja das Alkaloid sich befindet, fand ich nichts Wirksames, so daß ich mich um dieses gar nicht weiter gekümmert habe. Der Rückstand auf dem Filter wurde nach dem Abtropfen des Alkohol mit der gleichen Menge Kochsalzlösung, als vorher darin gewesen war, übergossen und wiederholt durch dasselbe Filter filtriert, bis das Filtrat klar durchfloß. Aus Versuchen, die mit

diesem gereinigten Auszug angestellt wurden, konnten wir im Vergleich mit denen, die mit den Stammauszügen angestellt wurden, nachweisen, daß das agglutinierende Prinzip der Erdnuß aus den Kochsalzauszügen durch geeignete Fällungsmittel wie Alkohol niedergeschlagen und bei raschem Arbeiten in wirksamer Form in 0,9 %iger Kochsalzlösung wieder gelöst werden kann. Da die bisher gefundenen pflanzl. Agglutinine z. T. ein Erhitzen selbst bis zu 90° C. aushalten, ohne ihre Wirkung zu verlieren, stellten wir auch mit unsern Erdnuß-Auszügen solche Erhitzungsversuche an. Der Auszug wurde 1 Stunde lang auf dem Wasserbade zunächst nur auf 65—70° erhitzt. Dabei entstand bereits ein reichlicher Eiweißniederschlag. Mit dem Filtrat dieses Niederschlages angestellte Versuche ergaben, daß der bis auf 70° erhitzte Auszug vollständig unwirksam geworden war, mit andern Worten, daß also der bei 70° koaguliert ausfallende Teil des Erdnußeiweiß agglutinierende Eigenschaften besitzt, der in Lösung bleibende aber nicht. Weiter ließ sich zeigen, daß der bei 60—65° ausfallende Teil das Wirksame noch nicht enthält. Es ist also der bei 65—70° fallende Teil das Agglutinin. Zur Berechnung der Agglutininmenge, die das Erdnußmehl enthält, wurden 25 ccm des Normalauszuges (20 : 100 bei 38° digeriert) erst bei 65° und dann eine Stunde bei 70° erhitzt und die Ausscheidung zwischen 65—70° nach Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Äther getrocknet und gewogen. Der gefundene Wert wurde auf Samenprozente umgerechnet. Es ergeben sich auf dem gewogenen, getrockneten Filter 50 mg bei 70° koaguliertes agglutininhaltiges Eiweiß für 5 g Same. Also enthält das Mehl höchstens 1 % Agglutinin. Die agglutinierende Wirkung des Phasin wurde an 12 verschiedenen Blutarten in zahlreichen Versuchen geprüft.

1. Da sich gerade am Meerschweinchenblut nach andern Autoren verschiedene Phasine besonders wirksam und das Ricin sogar noch in einer Verdünnung von 1: 160 000 agglutinierend erwiesen hatten, so verwendeten auch wir in zahlreichen Versuchen zunächst diese Blutart. Mit dem Auszug aus den ostafrikanischen Erdnüssen, sowie mit dem daraus dargestellten „Phasin", d. h. mit dem Alkoholniederschlag, der wieder in phys. Kochsalzlösung gelöst wurde, erhielten wir jedoch keine Agglutination. Auch mit dem Auszug aus Normalkuchen und mit dem Phasin aus gereinigtem Normalkuchenauszug stellten wir eine ganze Reihe von Versuchen mit 2, 4 und 5 % frischen Meerschweinchenblutkochsalzlösungen und mit 2 % ganz serumfreien und gewaschenen Meerschweinchenblutkörperchen suspension an. Bei sämtlichen Versuchen konnten wir auch nach 24stündigem Einwirken des Phasins in Mengen von 1—5 ccm auf 5 ccm der Blutsuspension bezw. der serumfreien Blutkörperchensuspension keine Wirkung feststellen. Also selbst wenn wir auf 5 ccm der Blutsuspension eine Auszugmenge, die 1 g Samen resp. 1 g Normalkuchen entsprach, einwirken ließen, bekamen wir nicht einmal nach 24 Stunden irgendwelche Veränderung der Blutkörperchen.

2. Eine Reihe von Versuchen wurden alsdann mit 2 % Rattenblutkochsalzmischung angestellt. Wir benutzten sowohl 20 % erhitzten Stammauszug aus Samen und 20 % Normalkuchenauszug, wie auch in einer ganzen Reihe von Versuchen als Kontrolle den 1 Stunde bis auf 70° erhitzten Normalkuchenauszug. In allen Fällen konnten wir selbst mit den höchsten Dosen (5 ccm des 20 % Auszug entsprechend 1 g Normalerdnußmehl) keine Agglutination

erzeugen. Das Verhalten der Gläschen mit dem erhitzten und mit dem unerhitzten Auszug war immer sich gleich, d. h. beide wirkten gar nicht. Bei sehr großen Dosen trat aber etwas Hämolyse ein.

3. Auch beim Menschenblut, das wir als frisches Placentarblut häufig zu unsern Versuchen benutzten, konnten wir mit Normalkuchenauszug, mit gereinigtem Samenauszug und mit auf 70° erhitztem Auszug aus Normalkuchen selbst bei Anwendung einer Dosis von 5 ccm Auszug (entsprechend 1,0 g Samen resp. 1 g Normalkuchen) auf 5 ccm einer 5 % Blutkochsalzlösung oder einer 4 % Blutkörperchensuspension nach 24, selbst nach 2×24 Stunden nicht einmal eine Spur von Agglutination erzielen.

In gleicher Weise fielen unsere Agglutinationsversuche mit Normalkuchenauszug beim Blut einer frischen Leiche (4 % in physiol. Kochsalzlösung suspendiert) und aus diesem Blut hergestellte Blutkörperchensuspension (2 %) absolut negativ aus.

4. Negativ fielen ferner alle unsere Agglutinationsprüfungen beim Pferdeblut aus, obwohl diese Blutart große Neigung hat zu agglutinieren. In zahlreichen Versuchen, in denen wir auch hohe Dosen von 20 % erhitztem und unerhitztem Erdnußkuchenauszug auf 2, 2½ und 4 % Pferdeblutkochsalzmischung und 2 % Pferdeblutkörperchensuspension einwirken ließen, war nach 24 Stunden keinerlei Wirkung festzustellen.

5. Beim Schweineblut, das in 2 % Kochsalzmischung wiederholt mit Erdnußkuchenauszug versetzt wurde, zeigte sich ebenfalls selbst nach längerem Einwirken keinerlei Agglutination, auch nicht nach 24 Stunden.

6.—7. Von Vogelblut untersuchten wir zwei Arten, nämlich Tauben- und Hühnerblut. Bei beiden Blutarten fanden wir dieselben Resultate: weder der unerhitzte noch der auf 70° 1 Stunde lang erhitzte Normalkuchenauszug (20 % u. 10 %) wirkte weder auf 2 %iges Hühnerblut noch auf 2 %iges Taubenblut; ja selbst auf serumfreie Hühnerblutkörperchen fand keine agglutinierende Einwirkung statt.

8. Mit Hammelblut (2 %) und mit sowohl 3 %igen als 2 %igen Hammelblutkörperchensuspensionen konnten wir gleichfalls die Agglutinationskraft unseres Phasins nicht beweisen. Bei Zusatz von Erdnußsamenauszug und von Erdnußkuchenauszug fand sich zwar nach 24 Stunden bei unsern Versuchen meist ein flockiger Niederschlag in unsern Gläschen, doch ergab die Filtration nichts, was für eine echte Agglutination beweisend gewesen wäre, auch nicht nach 2×24 Stunden. Die Filtration der umgeschüttelten Probe ergab stets, daß alle Blutkörperchen ins Filtrat gingen, statt auf dem Filter zu bleiben. Es kann sich hier also höchstens um eine Pseudoagglutination handeln.

9. Bei Hundeblut waren unsere Agglutinationsversuche einmal positiv, d. h. es trat bei Zusatz von Normalkuchenauszug zu einer 2 % Mischung von Hundeblut und phys. Kochsalzlösung noch bei einer Dosis von 1 ccm Auszug, entsprechend 0,2 g Erdnußmehl, zu 5 ccm Blutkochsalzgemisch, ergänzt mit 4 ccm Kochsalzlösung zu 10 ccm, noch totale Agglutination nach 20 Stunden ein (also in einer Verdünnung von 1:50), ja selbst der auf 70° 1 Stunde lang erhitzte Normalkuchenauszug zeigte bei diesem Hundeblut ebenfalls geringe Agglutinationswirkung. Dem widersprachen

aber eine ganze Reihe anderer Versuche mit Blut derselben Tierart, in denen wir zu dem Schluß kamen, daß Erdnußphasin für gewöhnlich auf Hundeblut absolut unwirksam ist, denn es zeigte sich auch fernerhin bei Anwendung größerer Dosen des Erdnußkuchenauszuges keinerlei Wirkung.

10. Auch bei Kaninchenblut waren die Resultate widersprechend, indem bei den Versuchen im Sommer 1911 gar keine Wirkung eintrat, in anderen aber im Winter 1912 erfolgte Agglutination noch durch relativ kleine Dosen des Erdnußauszuges.

11. Nicht mit absoluter Genauigkeit war die Wirkung unseres Phasins auf Igelblut festzustellen. Es wurde von narkotisierten und von normalen Igeln durch Entbluten gewonnen. In verschiedenen Versuchen konnten wir bereits nach einigen Stunden bei den höheren Dosen von Erdnußkuchenauszug (herunter bis zu 3 ccm entsprechend 0,6 g Kuchen), d. h. zu einer Zeit, wo die Kontrollgläschen noch keine Spur von Veränderung zeigten, feste Agglutination feststellen, doch ließ sich nach längerer Zeit der Einwirkung des Phasins das Endresultat dieser Versuche nicht verwerten, da jetzt auch in sämtlichen Kontrollgläschen, die nur Blutkochsalzmischung ohne Zusatz enthielten, totale Agglutination eingetreten war. Bei der häufigen Wiederkehr derartiger Erscheinungen glauben wir uns zu dem Schlusse berechtigt, daß das Igelblut mehr als viele andere Blutarten die Neigung zeigt, Autoagglutination zu bilden. Immerhin können wir nach unsern Versuchen nicht in Abrede stellen, daß das Erdnußphasin auf Igelblut agglutinierend wirkt.

12.—13. Im Gegensatz zu diesen Blutarten vermochten wir mit unserm Phasin auf Rinderblut

während des Verlaufs des Sommers 1911 in allen Fällen ganz erhebliche agglutinierende Wirkung auszuüben. Wir stellten Versuche mit gereinigtem Erdnußsamenauszug, mit 20 % Normalkuchenauszug, mit entfettetem und erhitztem Normalkuchenauszug und mit gereinigtem Normalkuchenauszug an. In allen Fällen erzielten wir damals bei Rinderblut echte Agglutination, wenigstens bei Anwendung höherer Dosen. Bei den im Winter 1912 angestellten Versuchen wirkte dagegen das Erdnußphasin nur in einzelnen Fällen auf Rinderblut agglutinierend. Bei Kalbsblut waren in einigen Fällen auch kleinere Dosen wirksam, während wir in anderen Fällen mit Kalbsblut, auch falls es ganz frisch in Anwendung kam, keine ganz deutliche Wirkung erzielten. Der 1 Stunde lang auf 70° erhitzte Kuchenauszug war auch bei dieser wie bei allen übrigen Blutarten ganz wirkungslos. Gerade auf Versuchen mit Rinderblut beruht meine Angabe, daß Erhitzen auf 70° die agglutinierende Wirkung des Erdnußphasins aufhebt. Ich lasse hier zur Erläuterung ein Versuchsprotokoll folgen.

Es wurden 2 ccm defibriniertes Rinderblut zu 98 ccm physiol. Kochsalzlösung hinzugesetzt. In 27 Reagenzgläser füllte ich je 5 ccm von diesem Gemisch. Dazu setzte ich in fallenden Mengen den 20 % Erdnußkuchenauszug. Der Inhalt jedes einzelnen Gläschens wurde dann mit Kochsalzlösung zu 10 ccm ergänzt. 4 Gläschen ließ ich zur Kontrolle ohne Gift, d. h. ich füllte je 5 ccm Kochsalzlösung auf. Die Gläschen blieben nach einmaligem Umkehren bei Zimmertemperatur unberührt stehen.

Nr. des Glases	Menge des 2%igen Rinderblutes	Menge der zugesetzten ClNa-Lsg.	Menge des Erdnußmehlauszugs		Konz. des Phasins im Glas
I	5 ccm	5 ccm	0		0
II	5 ccm	5 ccm	0		0
III	5 ccm	0	5 ccm	des 20%igen Auszuges	1,0 g : 10
IV	5 ccm	1 ccm	4 ccm		0,8 g : 10
V	5 ccm	2 ccm	3 ccm		0,6 g : 10
VI	5 ccm	3 ccm	2 ccm		0,4 g : 10
VII	5 ccm	4 ccm	1 ccm		0,2 g : 10
VIII	5 ccm	0	5 ccm	des 2%igen Auszuges	0,1 g : 10
IX	5 ccm	1 ccm	4 ccm		0,08 g : 10
X	5 ccm	2 ccm	3 ccm		0,06 g : 10
XI	5 ccm	3 ccm	2 ccm		0,04 g : 10
XII	5 ccm	4 ccm	1 ccm		0,02 g : 10
XIII	5 ccm	0	5 ccm	des 0,2%igen Auszuges	0,01 g : 10
XIV	5 ccm	1 ccm	4 ccm		0,008 g : 10
XV	5 ccm	2 ccm	3 ccm		0,006 g : 10
XVI	5 ccm	3 ccm	2 ccm		0,004 g : 10
XVII	5 ccm	4 ccm	1 ccm		0,002 g : 10
XVIII	5 ccm	0	5 ccm	des 0,02%igen Auszuges	0,001 g : 10
XIX	5 ccm	1 ccm	4 ccm		0,8 mg : 10
XX	5 ccm	1,5 ccm	3,5 ccm		0,7 mg : 10
XXI	5 ccm	2 ccm	3 ccm		0,6 mg : 10
XXII	5 ccm	2,5 ccm	2,5 ccm		0,5 mg : 10
XXIII	5 ccm	3 ccm	2 ccm		0,4 mg : 10
XXIV	5 ccm	3,5 ccm	1,5 ccm		0,3 mg : 10
XXV	5 ccm	4 ccm	1 ccm		0,2 mg : 10
XXVI	5 ccm	5 ccm	0		0
XXVII	5 ccm	5 ccm	0		0

Schon nach 5 Stunden zeigte sich bei Glas III—VII totale Agglutination. Nach 24 Stunden war auch totale Agglutination eingetreten in den Gläschen VIII—XVII. Deutliche Agglutination, doch weniger stark fand sich in XVIII—XXII. Die übrigen Gläschen blieben wie die Kontrollgläschen ohne jede Veränderung. Mit demselben Blut erhielt ich nach Erhitzen des Auszugs für eine Stunde auf 70° gar keine Agglutination.

Ergebnis: Noch bei Zusatz des bei 38° gewonnenen Auszuges aus 0,5 mg Preßkuchen zu 10 ccm Gemisch entstand totale feste Agglutination, d. h. bei 1 : 20 000 berechnet auf Preßkuchen. Legen wir den oben von mir berechneten Gehalt von 1 % Phasin im Preßkuchen zugrunde, so ergibt sich, daß das Erdnußphasin in diesem Falle noch bei 1 : 2 000 000 auf Rinderblut agglutinierend wirkte.

14. Sehr zahlreich waren unsere Versuche mit Katzenblut. Bei 2 % Katzenblut, bei 2 oder 2,5 % ganz serumfreien Katzenblutkörperchen zeigte sich in allen Fällen unser Phasin wirksam, und zwar auch in kleinen Dosen. Als störend erwies sich oft die Neigung des Katzenblutes zur Autoagglutination; immerhin zeigte eine große Reihe von einwandfreien Versuchen, daß bei Zusatz von einer Menge des Erdnußauszuges, der **0,02 g** Samenmehl entsprach, und bei höheren Dosen totale Agglutination bereits nach fünf Stunden festzustellen ist. Nach 24 Stunden fand sich auch deutliche Agglutination in den Gläschen, die nur 3½ ccm des 1000fach verdünnten 20 % Auszuges (entsprechend 0,0007 g Erdnußmehl) enthielten; in den Gläschen, die weniger enthielten, war dagegen keine Veränderung eingetreten. Wir können also annehmen, daß die Wirkungsgrenze des Erdnußphasin auf Katzenblut bei 3½ ccm des 1000fach verdünnten 20% Auszuges liegt, also bei einer Verdünnung von 1 : 14 285 auf Preßkuchen und 1 : 1428574 auf Erdnußphasin berechnet liegt.

Fassen wir die Ergebnise aller Versuche zusammen, so ergibt sich folgendes. Eine nach Art des Phasins der Bohnen aus Erdnußsamen und aus ricinusfreiem Erdnußpreßkuchen darstellbare Substanz, die wir Erd-

nußphasin nennen wollen, ist für das Blut bzw. für die roten Blutkörperchen von Ratten, Meerschweinchen, neugeborenen Menschen, erwachsenen Menschen, vom Pferd und vom Schwein sowie von Taube und Huhn gänzlich ohne Einwirkung. In Hammelblut ruft es vielleicht eine Art von Pseudoagglutination hervor. Auf Hundeblut und Kaninchenblut sowie auch auf Kalbsblut schien vereinzelt eine Wirkung ausgeübt zu werden; jedoch wurde in der Mehrzahl der Fälle keine Agglutination wahrgenommen. Igelblut wird, wie es scheint, stets agglutiniert. Rinderblut wird meist stark agglutiniert und Katzenblut immer. Bisher ist derartige agglutinierende Einwirkung von Giften nur auf einzelne Blutarten nur von dem unter Kobert durch Elfstrand untersuchten Krotin bekannt, während Abrin und Ricin zwar nicht auf alle Blutarten gleich stark wirken, aber doch nur ganz wenige ganz unbeeinflußt lassen. Erhitzen auf 70° hebt die Wirkung des Erdnußphasins binnen 1 Stunde auf. Die Angabe von Mießner und Rewald[1]), daß Erdnußkuchenauszug auf Blut nie agglutinierend wirkt, muß ich also wesentlich einschränken.

3. Wirkung des Erdnußphasins bei subkutaner und intravenöser Einführung.

Es lag die Frage sehr nahe, ob man das von uns dargestellte Phasin, das sich auf einige Blutarten als

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. exp. Therapie Bd. II, Heft 3, 1909, S. 345.

so stark agglutinierend erwiesen hatte, auch eine toxische Komponente besäße. Zur Klärung dieser Frage stellten wir eine Reihe von Tierversuchen an, von denen hier einige wiedergegeben sein sollen:

Versuch I.

Von der Stammlösung, hergestellt aus frischen Erdnüssen, 10 %, werden einem kräftigen Kaninchen 2 ccm (= 0,2 g Samen) subkutan injiziert. Das Tier bleibt frisch, frißt und zeigt auch am nächsten Tag keine Störung im Wohlbefinden; im Harn findet sich kein Eiweiß. Nach 14 Tagen erhält dasselbe Tier eine intravenöse Injektion von 1 ccm des 20 % Normalerdnußmehlauszuges, der jedoch zur Injektion noch 20fach verdünnt wurde mit ClNa. Das Tier erhielt also 20 ccm zu je 10 mg Preßkuchen. Das Wohlbefinden des Tieres blieb ungestört. Am nächsten Tag erhält das Tier subkutan 1 ccm des unverdünnten 20 % Auszuges (= 0,2 g Kuchen); in den nächsten Tagen keine Veränderung. Es werden nach zwei Tagen wieder 2 ccm des unverdünnten Auszuges aus Normalkuchen subkutan appliziert, an demselben wie am nächsten Tage keine Veränderung; es werden nun 5 ccm, und da auch dies ohne jede Störung vertragen wird, am folgenden Tag 10 ccm des unverdünnten 20 % Normalerdnußkuchenauszuges subkutan injiziert. Diese Dose entspricht dem Löslichen aus 2 g Preßkuchen. Das Tier befindet sich auch in den nächsten Tagen wohl, kein Eiweiß im Harn nachzuweisen. Nach zwei Tagen wurden noch einmal 10 ccm 20 % Auszuges (= 2 g Erdnußkuchen) injiziert; das Tier bleibt wiederum gesund.

Versuch II.

Einem anderen Kaninchen wird 1 ccm von 20 % Erdnußkuchenauszug subkutan injiziert. In den nächsten Tagen Tier munter. Es erhält nach 2 Tagen eine neue subkutane Injektion von 5 ccm des 20 % Normalkuchenauszuges. Am nächsten Tage finden sich Spuren von Eiweiß im Urin, Allgemeinbefinden des Tieres scheint nicht gestört. Wieder nach zwei Tagen erhält das Tier eine Injektion von 2 ccm des unverdünnten 20 % Auszuges in die Ohrvene. Am nächsten Tage keine Erscheinungen. Auch eine erneute subkutane Injektion von 10 ccm des 20 % Auszuges nach zwei Tagen wird ohne jede bemerkenswerte Störung im Allgemeinbefinden vertragen.

Versuch III.

Ein großes Kaninchen erhält 2 ccm eines gereinigten Normalkuchenauszuges (= 134 mg Mehl) in die Ohrvene eingespritzt. Am nächsten Tage Harn frei von Eiweiß und Zucker. Es werden von demselben gereinigten Auszuge 5 ccm (= 335 mg Mehl) am nächsten Tage in die Ohrvene eingespritzt. Danach im Harn eine Spur von Eiweiß, nur nach der Schichtreaktion nachweisbar. In den nächsten Tagen im Harn kein Eiweiß. Nach 4 Tagen erhält das Tier abermals eine Injektion von 2 ccm des gereinigten Auszuges (der der Wirksamkeit aus 1,6 g Samenmehl entsprach) intravenös injiziert. In den nächsten Tagen keine Veränderung.

Versuch IV.

Zwei Frösche (Rana esculenta und Rana fusca) erhalten je 2 ccm eines Auszuges aus Erdnüssen (= 0,2 g Samen) subkutan injiziert. In den folgenden Tagen befinden sich beide noch wohl.

Versuch V.

Einem Meerschweinchen werden subkutan 2 ccm des 20 % Normalerdnußkuchenauszuges injiziert. In den nächsten Tagen sind absolut keine Störungen im Befinden des Tieres festzustellen.

In ähnlicher Weise wurde noch eine ganze Reihe von Tierversuchen angestellt, die dieselben negativen Resultate ergaben. Es zeigten sich also in keinem Falle irgendwie Vergiftungserscheinungen, und so können wir also das von uns dargestellte Agglutinin für die von mir benutzten Tierarten zu den ungiftigen pflanzlichen Agglutininen rechnen, denen Wienhaus die spezielle Bezeichnung Phasine gegeben hat. Versuche am Rind habe ich freilich nicht anstellen können, da sie mir zu kostspielig waren.

4. Über den Nachweis von Ricinusgift in Erdnußkuchen.

Wir hatten eingangs von Vergiftungen gesprochen, die bei Verfütterung von Preßkuchen, insbesondere Erdnußkuchen, an Tieren beobachtet worden waren und auf Verunreinigungen in den Preßkuchen zurückgeführt wurden. Auch wir erhielten einige Proben von Erdnußkuchen, der Vergiftungen hervorgerufen hatte, zur Untersuchung. Herr Geheimrat Schultze in Braunschweig sandte uns Proben von Erdnußkuchen, der sich an einer Reihe von Tieren als giftig erwiesen hatte. Mit einem Auszug aus diesem Kuchen und mit einem reinen Präparat, das wir daraus nach der Phasinmethode herstellten, machten wir eine Reihe von Agglutinationsversuchen, die bedeutende Abweichungen im Resultat von denen mit Normalerdnußkuchen aufwiesen:

Bei einer 4 % Menschenblut kochsalzlösung konnten wir nach Zusatz von 20 % resp. 40 % Braunschweiger Kuchenauszug bei einer Dosis von 5 ccm des 40 % Auszuges auf 5 ccm der Blutkochsalzlösung bereits nach 10 Minuten totale Agglutination feststellen. Bei den Gläschen, denen 2 ccm = 0,4 g Kuchen und mehr zugesetzt war, trat starke Agglutination nach 5 Stunden ein. Die Gläschen, denen noch kleinere Dosen, bis zu 0,1 g Kuchen, zugesetzt worden waren, zeigten totale Agglutination nach 17 Stunden. Da unverfälschter Erdnußkuchen auf Menschenblut überhaupt keine Einwirkung hat, ist durch diesen Versuch, der mehrmals wiederholt wurde, und der jedesmal dasselbe Ergebnis lieferte, bereits ganz einwandfrei nachgewiesen, daß der aus Braunschweig eingesandte verdächtige Kuchen ein fremdes Agglutinin enthielt.

Nun hat Prof. Kobert früher gefunden, daß das Ricin beim Erhitzen auf 70° reine Wirksamkeit nicht verliert. Somit war die Möglichkeit gegeben, das Erdnußphasin im Auszug aus diesem Kuchen vom Ricin zu trennen. Zu diesem Behufe wurde der Auszug erhitzt. Dieses Erhitzen des Auszuges aus Braunschweiger Kuchen auf 70° eine Stunde lang übte gar keine oder nur eine sehr geringe abschwächende Wirkung auf seine Agglutinationskraft aus. Wir erhielten nämlich mit dem erhitzten Auszug in einer Dosis, die 0,1 g des Kuchens entsprach, nach 17 Stunden totale Agglutination sowohl von Placentarblut als von Leichenblut. Bei beiden Blutarten war gleich starke Agglutination zu finden.

Beim Pferdeblut konnten wir ebenfalls eine starke agglutinierende Wirkung mit dem erhitzten Auszug aus Braunschweiger Erdnußkuchen erzielen. Bereits nach 5 Stunden war in den Gläschen, die 4 ccm des 20 % Auszuges (= 0,8 g) enthielten, totale feste Agglutination eingetreten.

Auch beim Kaninchenblut war eine starke Agglutinationswirkung des Braunschweiger Erdnußkuchen festzustellen. Bei Zusatz von 5 ccm des 20 % Auszuges, der mit Alkohol gefällt und wieder mit Kochsalz gelöst war, zu 5 ccm einer 2 % Kaninchenblutkörperchensuspension war schon nach 5 Minuten starke Agglutination zu erkennen, bei Zusatz von 5 ccm Auszug und herunter bis 3 ccm, die in kleinster Dosis einer Kuchenmenge von 0,03 g entsprach, war nach 6 Stunden schon deutliche Agglutination eingetreten. Auch der 1 Stunde lang nicht auf 70°, sondern sogar auf 73° erhitzte 20 % Auszug zeigte starke Wirkung, denn bei Zusatz von 5 ccm dieses Auszuges zu 5 ccm einer 4 % Kaninchenblutkörperchensuspension war nach

4 Stunden die Agglutination in dem Gläschen so vollständig, daß ein klares Filtrieren möglich war.

Auf Meerschweinchenblut war die Einwirkung des Auszuges aus Braunschweiger Kuchen ebenfalls eine starke. Zusatz von 5 ccm 20 % Auszuges zu 5 ccm einer 4 % Meerschweinchenblutkörperchensuspension ließ nach 5 Stunden bereits totale Agglutination erkennen. Auch von dem mit Alkohol gefällten und wieder gelösten 20 % Auszug genügten 5 ccm, um bei einer 2 % Meerschweinchenblutkörperchensuspension innerhalb 20 Stunden totale Agglutination hervorzurufen. Auch mit dem 1 Stunde lang auf 70° erhitzten Auszug erhielten wir bei 4 % Meerschweinchenblut herab bis zu einer Dosis von 3 ccm (= 0,3 g Kuchen) in 24 Stunden völlige Agglutination.

Auf 2 % Hühnerblut kochsalzmischung wirkte der 20 % Auszug innerhalb 24 Stunden ebenfalls total agglutinierend bei Zusatz von 5 ccm Auszug (= 1,0 g Kuchen) zu 5 ccm des Blutgemisches.

Beim Katzenblut konnten wir mit dem Auszug aus auf 70° erhitzten Braunschweiger Kuchen innerhalb weniger Stunden starke Agglutination erzielen. Bei Anwendung höherer Dosen (entsprechend 1,0—0,2 g Kuchen) des nicht erhitzten Auszuges fanden wir totale, resp. partielle Hämolyse. Die bei diesen Versuchen mit verdünntem Ricinusauszug angestellten Vergleichsproben zeigten dieselben Resultate. Diese Ergebnisse ließen uns den Schluß ziehen, daß es sich bei der Verunreinigung des Braunschweiger Kuchen — denn solche mußte man ja im Hinblick auf die Ergebnisse bei den Versuchen mit Normalkuchen (resp. mit Auszug aus Erdnüssen) annehmen —, um ein bei einstündiger Erhitzung auf 70—73° C. wirksam bleibendes Agglutinin der verschie-

densten Blutarten, d. h. um Ricin, handeln müsse, da nur dieses bei allen genannten Blutarten auch nach der Erhitzung auf 70—73° noch stark agglutinierend wirkt.

Diese Annahme glaubten wir endlich auch noch auf einem dritten Wege, nämlich durch Tierversuche bestätigen zu können.

Einem 2015 g schweren Kaninchen wurden 5 ccm des 20 % Auszuges aus Braunschweiger Kuchen am 7. I. 11 mittags subkutan injiziert. Am 8. I. früh wurde das Tier tot aufgefunden. Die Sektion ergab folgendes: Geringe haemorrhagische Ergüsse in der Bauchhöhle und in den Brusthöhlen. Herz und Lungen o. B. Darmkanal sehr blutreich. Verstreut auf der Serosa punktförmige Blutungen. Der ganze lymphatische Apparat ist sehr blutreich und stark geschwollen; stellenweis sind die Solitärfollikel und die Plaques so stark blutig durchtränkt, daß sie einen schwarzroten Fleck darstellen. Besonders stark geschwollen sind das Drüsenpaket an der Gekrösewurzel und die Follikel des Wurmfortsatzes. An der Magendarmschleimhaut nichts Auffälliges. Leber blutreich. Nierenrinde blaß. In der Blase dunkler Harn, der mikroskopisch reichlich kurze, grobgranulierte Zylinder, aber keine Epithelien enthält. Säurezusatz löst sie nicht auf. Der filtrierte Harn enthält Eiweiß.

Auch das Ergebnis dieses mehrfach wiederholten Tierversuches läßt unzweifelhaft darauf schließen, daß der Braunschweiger Kuchen nicht nur mit Ricinusschalen, sondern auch mit Ricinussamenbestandteilen verunreinigt war. Schalenauszüge wirken nämlich überhaupt nicht giftig. Analoge Tierversuche mit Auszügen aus Ricinussamen und aus Ricinuskuchen ergaben nach eigenen Erfahrungen und nach denen anderer Autoren, wie z. B. Assmann, analoge, ja z. T. identische Vergiftungserscheinungen.

Somit haben wir also auf dreifache Weise, nämlich erstens durch den einfachen Agglutinationsversuch an Blut von beliebigen Tierarten, zweitens durch den Erhitzungsversuch bis auf eine Temperatur, welche das Erdnußphasin und fast alle andern Aggluitinine denaturiert, endlich drittens durch den Injektionsversuch an Kaninchen dargetan, daß in dem aus Braunschweig uns durch Geh. Rat Schultze eingesandten Futterkuchen eine Verunreinigung des Erdnußmehles nicht nur durch Ricinusschalen, die pharmakognostisch leicht zu ermitteln waren, sondern auch durch Samenbestandteile von nicht entgiftetem Ricinus communis vorlag. Bei dem energischen Widerstand, welchen die Futterwarenhändler derartigen Angaben entgegenzusetzen pflegen, ist es von Wichtigkeit hinzuzufügen, daß wir nicht nur imstande sind, unsere Angaben vor Gericht zu beeidigen, sondern auch jede Angabe über ricinhaltige Futtermittel durch Wiederholung unserer Versuche jederzeit neu belegen können.

Eine andere Probe von Erdnußkuchen erhielten wir vom hiesigen landwirtschaftlichen Institut zugesandt. Bei Fütterung mit diesem Kuchen hatten sich auf einem Gute in Mecklenburg am Vieh Vergiftungserscheinungen bemerkbar gemacht.

An 7 verschiedenen Blutarten prüften wir die Agglutinationsfähigkeit des Auszuges aus diesem Kuchen, der nach der Phasinmethode hergestellt wurde. Auf Meerschweinchenblut und Menschenblut wirkte der Auszug nicht, selbst bei Anwendung höherer Dosen. Auf Pferdeblut körperchensuspension wirkte der Auszug nur schwach agglutinierend,

stärker auf Katzenblut und Rinderblut, auf 2 % Hühnerblut wirkte der 20 % Auszug in einer Dosis von 3 ccm (= 0,6 g Kuchen) innerhalb 18 Stunden total agglutinierend. Bei Kaninchenblut erhielten wir bei Zusatz von 5 ccm des 10 % Auszuges zu 5 ccm einer 2 % Kaninchenblutkörperchensuspension bereits nach 2 Stunden völlige Agglutination. Erhitzen auf 70° hob die Wirkungen auf Kaninchenblut nicht auf.

Somit war also auch für dieses Erdnußmehl der Gehalt an Ricinussamenbestandteilen biologisch nachgewiesen. Offenbar waren aber hier die beigemischten Ricinusmengen viel geringer als bei dem Braunschweiger Erdnußfutter.

Gerade durch diese Untersuchung wurde das Verlangen rege, die unterste Grenze der Nachweisbarkeit festzustellen. Dazu sind freilich sehr viel mehr Versuche erforderlich, als ich sie auszuführen imstande war. Prof. Kobert wird darüber anderweitig berichten. Ich meinerseits will nur einige Belege dafür anführen, daß ich zu Erdnußauszug zugemischten Ricinussamenauszug in dem Gemisch auch tatsächlich nachweisen konnte.

So stellten wir z. B. ein Gemisch von 19 ccm des 20 % Normalkuchenauszugs und 1 ccm eines 2 % Auszuges aus nicht entfetteten schalenfreien Ricinussamen her. Jeder ccm dieses Gemisches enthielt das Ricin aus 1 mg ölhaltigen Samen und das Erdnußphasin aus 190 mg Erdnußkuchen. Von diesem Gemisch wurden zu je 5 ccm einer 4 % Suspension von Menschenblut in phys. Kochsalzlösung 5, 3, 2 und 1 ccm zugesetzt und dann das Volumen mit Kochsalzlösung auf 10 ccm ergänzt. Nach 15 Stunden war in den

Gläschen, denen 2 ccm und mehr von dem Gemisch zugesetzt worden war, deutliche Agglutination eingetreten. Die kleinste Dosis, d. h. 1 mg Ricinus, rief keine deutliche Wirkung mehr hervor. Als Resultat ergibt sich, daß 2 mg fetthaltigem Ricinussamen (entsprechend etwa 1 mg fettfreiem Ricinussamen) in 10 ccm Gemisch, d. h. bei einer Verdünnung von 1 : 10000 noch ohne Mühe durch den Agglutinationsversuch mittelst Menschenblut nachweisbar sind, auch wenn gleichzeitig 190 mg Erdnußmehl-Auszug, d. h. ein 190facher Überschuß an Erdnußmehl, anwesend ist.

Ein anderes Erdnuß-Ricingemisch wurde folgendermaßen hergestellt.

400 g Normalerdnußmehl + 1 g geschälter ölhaltiger Ricinussamen wurden mit 2 Liter Kochsalzlösung bei Stubentemperatur 18 Stunden digeriert, dann durchgegossen, neutralisiert und filtriert. Vor dem Filtrieren wurde der Auszug 1 Stunde lang dem Erhitzen bei 70° ausgesetzt. Bei Zusatz von 5 ccm (und weniger) des Filtrates dieses Auszuges zu 5 ccm 3 % Menschenblutkörperchen-Suspension war, wie schon nach dem vorigen Versuch zu erwarten war, keine Wirkung festzustellen. Die in 5 ccm des Filtrates enthaltene Menge Ricinus betrug ja auch nur 0,5 mg, auf ölhaltigen Samen berechnet, und auf ölfreien sogar nur 0,25 mg. Um das Gift zu konzentrieren, versetzten wir diesen erhitzten Erdnuß-Ricinusauszug mit gleichen Teilen Alkohol und lösten die Fällung nun in 5mal weniger Kochsalzlösung als vorher. Infolgedessen entsprach jetzt 1 ccm einer 5mal größeren Menge von Ricinus, nämlich 2,5 mg ölhaltigem und 1,25 mg entöltem Samen.

Bei Zusatz von 5 ccm herunter bis zu 1 ccm dieses konzentrierteren Auszuges zu 2 % iger ganz serumfreier Katzenblutkörperchen-Suspension zeigte sich nach 18 Stunden deutliche Agglutination, während in den zur Kontrolle aufgestellten Gläschen, denen der nicht mit Alkohol behandelte Erdnußricinusauszug in großen Dosen zugesetzt war, nur geringe und bei andern Versuchen sogar gar keine Wirkung festzustellen war, und zwar selbst nicht bei Anwendung einer Dosis, die 2,5 mg Ricinussamen entsprach.

Somit kommen wir zu dem Ergebnis, daß durch Fällen mit Alkohol und rasches Wiederlösen des eine Stunde lang auf 70° erhitzten und filtrierten Auszuges aus Erdnußkuchen der Nachweis von Ricinus in diesem Erdnußmehl erleichtert und verschärft wird, so daß noch ¼ Prozent dieser giftigen Verunreinigung mit Hilfe von Katzenkörperchen sicher nachgewiesen werden kann.

Bei Erhitzen des Erdnußricinusauszuges für eine Stunde auf 70° C. werden große Mengen störender Substanzen mit dem Erdnußphasin niedergerissen. Erhöht man jedoch die Temperatur auf 80° C., so ergab sich in allen Fällen trotz nachfolgender Fällung mit Alkohol und konzentrierter Wiederlösung eine merkliche Abschwächung der Ricinwirkung, selbst wenn ein so empfindliches Reagens wie isolierte Katzenkörperchen angewandt wurden.

Auch mittelst Vogelblut wurde das Erdnuß-Ricingemisch in einigen Versuchen geprüft. Dabei zeigte sich, daß Hühnerblut viel schwächer auf das im Gemisch vorhandene Ricin reagierte als Taubenblut. Dabei war es gleichgiltig, ob wir das Gemisch

bei 38° oder bei 70° gehalten hatten, ehe wir es zur Verwendung brachten. Sowohl der unerhitzte als der erhitzte Auszug aus Erdnuß-Ricinusgemisch wirkten nämlich noch in einer Dosis entsprechend 0,05 mg ölfreien Ricinussamen auf Taubenblut langsam aber sicher agglutinierend. Ob es noch andere so empfindliche Vogelblutarten gibt, weiß ich nicht. Bei Hühnerblut sahen wir mit einer 1 mg Ricinussamen entsprechenden Menge des unerhitzten Auszuges keine Wirkung mehr. Diese Vogelblutart bietet für den Nachweis des Ricinusgiftes also keinen Vorteil, vielmehr ist Taubenblut dazu viel geeigneter als Hühnerblut.

Beim Kaninchenblut und beim Hundeblut konnten wir mit dem auf 70° erhitzten Erdnuß-Ricingemisch nur dann deutliche Agglutination erzielen, wenn die Dosis mehr als 0,5 mg Ricinus entsprach. Beim Hundeblut ging die Agglutinationskraft beim Erhitzen einmal sogar völlig verloren, obwohl 1 mg Ricinussamen anwesend war. Doch will ich auf diesen Erhitzungsversuch keinen Wert legen; mir genügt es, festgestellt zu haben, daß der erhitzte Auszug auf Kaninchen- und Hundeblut andere Male sicher agglutinierend wirkte, wenn auch nur 0,6—0,8 mg Ricinussamen in der angewandten Portion vorhanden war.

Beim Meerschweinchenblut konnten wir ebenfalls mit dem auf 70° erhitzten Erdnuß-Ricingemisch noch deutliche Agglutination erzielen, doch scheint nach unsern Versuchen das Erhitzen des Auszuges auf 70° auch bei dieser Blutart eine gewisse Abschwächung des wirksamen Prinzipes zur Folge zu haben.

Beim Rattenblut sahen wir bei Zusatz von erhitztem Erdnußricin noch bei Anwendung einer Dosis, die nur 0,5 mg Ricinussame enthielt, Agglutination erfolgen, daneben konnten wir aber in einigen Versuchen noch folgende besondere Erscheinung feststellen: die rote Färbung der Blutkochsalzmischungen, denen wir den Auszug zusetzten, nahm einen braunen Farbenton an, was sich spektroskopisch als auf Auftreten von Methaemoglobin beruhend erwies; doch fanden wir diese Nebenerscheinung nur bei wenigen Versuchen.

Beim Schweineblut sahen wir meist beim Erhitzen des Erdnußricinusauszuges eine erhebliche Abschwächung der agglutinierenden Wirkung eintreten.

Als Gesamtergebnis der Versuche, die wir mit den eigenen Erdnußricinusmischungen anstellten, können wir also angeben, daß die Anwesenheit von Erdnuß auch in recht großen Mengen für den Ricinusnachweis keine unüberwindlichen Hindernisse in den Weg legt. Unter welchen Umständen Abschwächung statt Verstärkung der Wirkung des agglutinierenden Prinzipes durch Erhitzen des Erdnuß-Ricingemisches auf 70° eintritt, wird noch weiter untersucht werden. Sichergestellt ist jedenfalls, daß durch Fällen des Auszugs — er sei erhitzt oder nicht — mit Alkohol und rasches Wiederlösen der Nachweis von Ricinus im Erdnußmehl erleichtert und verschärft wird.

5. Hat Anverdauung einen Einfluß auf den Nachweis von Ricinus im Erdnußmehl?

Um zu sehen, inwieweit die agglutinierende Wirkung des Erdnußphasins durch verdauende Enzyme verringert oder gar aufgehoben würde, stellten wir eine

Reihe von Versuchen mit Pepsin, Pankreatin und Papain an.

Benutzt wurde

1. eine im Institut vor 20 Jahren hergestellte Pepsinlösung von unbekanntem Gehalt, aber sehr wirksam,
2. eine ebenfalls im Institut hergestellte Pankreatinlösung von unbekanntem Gehalt, ebenfalls sehr wirksam,
3. eine frisch hergestellte 10 % Papainlösung aus Papain der bekannten Rostocker Firma Fr. Witte.

Die Wirksamkeit wurde geprüft durch Kontrollproben mit Fibrinflocken.

1. Es wurden zu 25 ccm Erdnußauszug aus fettfreiem Mehl (1 ccm = 0,2 g Mehl) mit 2 ccm Pepsinlösung versetzt und dieses Gemisch mit H Cl schwach angesäuert.
2. Zu 25 ccm von demselben Erdnußauszug wurden 2 ccm Pankreatinlösung gesetzt und mit Alkalikarbonat alkalisch gemacht.
3. Zu 25 ccm von dem gleichen Erdnußauszug wurden mit 1 ccm 10 % Papainlösung (ohne Zusatz) gemischt.

Diese Gemische wurden 48 Stunden im Digestionsbad belassen. In sämtlichen Gemischen waren in dieser Zeit dicke Ausscheidungen entstanden. Diese wurden abfiltriert und mit den neutralisierten Filtraten Blutversuche angestellt. Als Blutart gelangte Katzenblut als 2 % Katzenblutkochsalzlösung zur Verwendung. Die Versuche hatten das Ergebnis, daß weder die Verdauung durch Pepsin noch die durch Pankreatin noch die durch

Papain das Agglutinin der Erdnuß schädigt, denn nach allen drei Verdauungen trat noch bei 5000facher Verdünnung des Samenauszuges völlige Agglutination ein. Auf wirksames Agglutinin umgerechnet wird das Ergebnis noch 100mal günstiger, d. h. es erfolgte noch totale agglutinierende Wirkung bei 1:500 000, falls Katzenblut verwendet wurde.

Kontrollversuche zeigten, daß alle drei Fermente verdauend gewirkt hatten. Wir kommen also zu dem Ergebnis, daß die genannten drei Fermente auf das Erdnußagglutinin zunächst, d. h. in den ersten 2×24 Stunden nicht schädigend einwirken. Ob sie die chemisch reine Substanz auch beim Fehlen aller begleitenden Schutzeiweiße intakt lassen würden, ist mir nach Analogie dessen, was wir über das Ricin wissen, höchst fraglich.

Zum Schluß sei ausdrücklich bemerkt daß diese Versuche in unserm Institute noch wiederholt und in mehrfacher Weise variiert werden. Leider erlaubte es meine Zeit nicht weiter daran teilzunehmen. Es wird sich darum handeln festzustellen, ob wirklich einige Blutarten gegen Erdnußphasin immer ein so schwankendes Verhalten zeigen, wie ich es angegeben habe.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Kobert, spreche ich auch an dieser Stelle für seine vielfachen Anregungen und seine weitgehende liebenswürdige Unterstützung meinen ergebensten Dank aus.

Lebenslauf.

Am 17. Januar 1888 wurde ich, Hermann Feuerhack, zu Templin geboren, als Sohn des Lehrers Feuerhack. Ich besuchte das Gymnasium zu Steglitz-Berlin und bestand dort im Februar 1906 die Reifeprüfung. Ich studierte Medizin an den Universitäten Tübingen, Berlin und Rostock. Hier bestand ich im Sommer 1908 die ärztliche Vorprüfung, am 24. Mai 1911 die ärztliche Staatsprüfung und am 18. Dezember 1911 das Examen rigorosum.